

Végéphyt – 12^e CONFÉRENCE INTERNATIONALE SUR LES MALADIES DES PLANTES
TOURS – 11 ET 12 DÉCEMBRE 2018

COMMENT PREVENIR ET GERER LA RESISTANCE AUX FONGICIDES ?

A.-S. WALKER

UMR1290 BIOGER, INRA, AgroParisTech, Université Paris-Saclay, F-78850 Thiverval-Grignon, France

RÉSUMÉ

La résistance aux fongicides résulte de l'adaptation des populations fongiques aux pressions de sélection exercées par les traitements. L'augmentation en fréquence des individus résistants peut conduire dans certaines conditions à une perte d'efficacité totale ou partielle des spécialités. Ceci implique d'utiliser les substances actives fongicides selon des stratégies anti-résistance adaptées au cas par cas à la situation de résistance. Les stratégies anti-résistance consistent à maximiser l'hétérogénéité de la sélection reçue par les populations, *i. e.* à déployer les matières actives de manière optimale dans l'espace et dans le temps, à une dose adéquate, afin d'en accroître la durabilité. Cet article présente les mécanismes, caractéristiques et limites des stratégies de mélange, alternance, mosaïque et limitation de la dose.

Mots-clés : résistance, stratégies, limitation, alternance, mélange, mosaïque, modulation de la dose.

ABSTRACT

HOW TO PREVENT AND MANAGE FUNGICIDE RESISTANCE?

Fungicide resistance results from the adaptation of fungal populations to the selection pressures exerted by treatments. The increase in frequency of resistant individuals can lead under certain conditions to a total or partial loss of efficacy of the specialties. This implies using the fungicidal active substances according to anti-resistance strategies adapted to the resistance situation on a case-by-case basis. Anti-resistance strategies consist in maximizing the heterogeneity of the selection received by populations, *i. e.* deploying active ingredients in an optimal manner in space and time, at an adequate dose, in order to increase their sustainability. This article presents the mechanisms, characteristics and limits of mixture, alternation, mosaic and dose limitation strategies.

Keywords: resistance, strategies, limitation, alternation, mixture, mosaic, dose modulation.

INTRODUCTION

La résistance aux fongicides est la capacité intrinsèque et héritable de certains génotypes de pathogènes leur permettant de survivre à des concentrations de fongicides qui tuent ou inhibent le développement de génotypes sensibles de la même espèce. Cette capacité est déterminée par une ou plusieurs mutations naturelles présentes dans le génome des génotypes résistants (R4P 2016). L'adaptation du champignon aux fongicides concerne à la fois les molécules d'origine naturelle et d'origine synthétique. Chaque substance active est cependant associée à un risque de résistance spécifique, dépendant entre autres de son mode d'action. Ainsi, les molécules unisites (possédant une seule cible biochimique au sein de la cellule fongique) sont en général à risque de résistance plus important que les molécules multisites (possédant plusieurs cibles biochimiques), rarement concernées par la résistance.

En présence de fongicide, l'augmentation en fréquence des génotypes les plus avantageux (*i.e.* les individus résistants) dans les populations est le résultat de la sélection darwinienne (Fig. 1). A la mise sur le marché d'une substance active, la fréquence des individus résistants est en général extrêmement faible et indétectable par les outils de surveillance usuels. Lorsque la fréquence des individus résistants augmente, sous l'effet de la pression de sélection résultant de l'utilisation du fongicide, les individus résistants deviennent détectables, de manière d'autant plus précoce que les outils de détection sont performants et que l'échantillonnage testé est adapté. A partir d'un seuil de fréquence, propre à chaque cas de résistance, l'efficacité du fongicide peut être altérée, totalement ou partiellement. On parle alors de résistance en pratique. Dans ce cas, l'intérêt de la substance active est fortement compromis, sauf si la résistance s'accompagne d'un coût (ou perte de fitness, représentant la capacité d'un génotype à survivre en compétition avec les autres et à laisser des descendants), qui favorise la diminution naturelle de la résistance (résistance non persistante), lorsque le fongicide n'est plus utilisé.

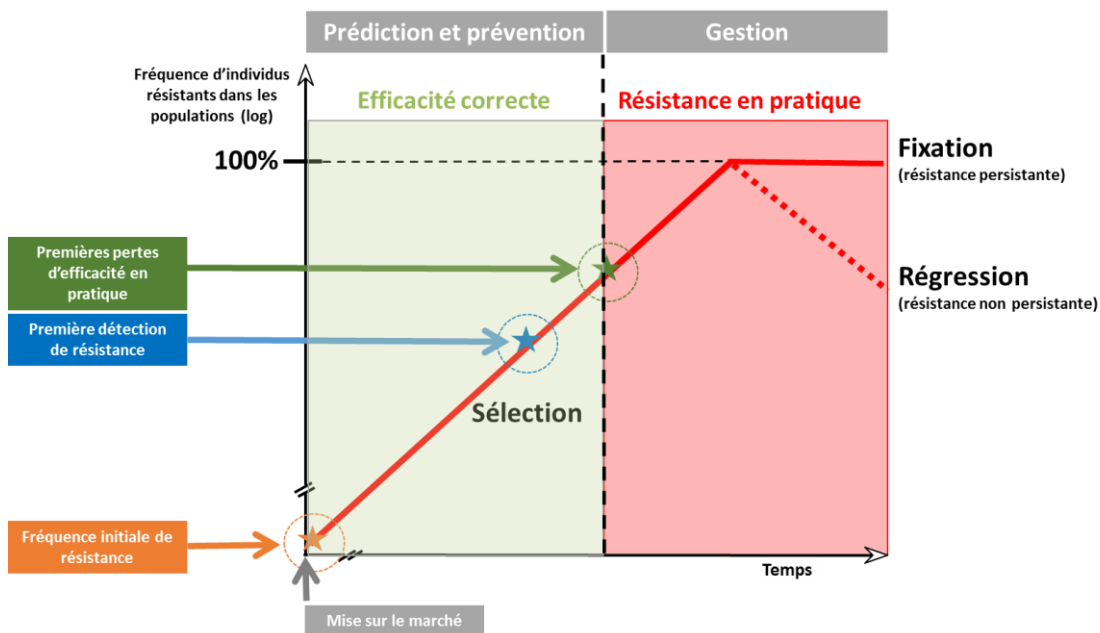


Figure 1. Evolution de la résistance dans les populations de champignons phytopathogènes soumises à pression de sélection fongicide.

Evolution of resistance in populations of plant pathogenic fungi under fungicidal selection pressure.

Dans un contexte où le nombre de mode d'action fongicides utilisables pour contrôler les maladies fongiques diminue, du fait de la réglementation, de la demande sociétale et de la généralisation de certaines résistances, un enjeu important de la protection des plantes est donc de prévenir la sélection des souches résistantes en adoptant les stratégies de traitement les plus adaptées. L'optimisation de

ces stratégies repose sur la connaissance de plusieurs facteurs, dont les mécanismes et la génétique de la résistance et la dynamique d'évolution des populations. Une connaissance des mécanismes sous-tendant chaque stratégie s'avère utile pour les déployer durablement. Cet article présente une synthèse des différentes hypothèses relatives aux stratégies anti-résistance.

METHODES ALTERNATIVES A LA LUTTE CHIMIQUE COMME OUTILS PRIORITAIRES DE GESTION DE LA RESISTANCE

L'objectif d'un traitement fongicide est de diminuer la quantité de symptômes présente sur la culture, *i.e.* de diminuer la taille des populations de pathogènes. Cet objectif démographique peut-être obtenu par d'autres méthodes que la lutte chimique, ce qui permet *de facto* de ne pas exercer de sélection par les fongicides et d'interrompre l'augmentation en fréquence de la résistance comme décrit plus haut (Fig. 1). Les autres méthodes de lutte contrôlent de manière équivalente les individus sensibles et résistants et permettent indirectement la gestion des résistances aux fongicides. Il peut s'agir de méthodes prophylactiques ou de techniques culturales permettant d'épuiser l'inoculum fongique (*e. g.* labour, rotation, gestion des réservoirs de plantes hôtes, notamment adventices, élimination des organes contaminés, gestion du climat), d'éviter le stade sensible de la plante (*e. g.* décalage des dates de semis), de maîtriser la sensibilité de la plante au pathogène (*e. g.* gestion de la vigueur, maîtrise de la fertilisation, stimulation des défenses naturelles) ou de limiter les contaminations inter-plantes (*e. g.* gestion de la densité de semis ou de plantation). La lutte variétale est également un levier primordial pour la gestion des maladies et avec le développement rapide des biotechnologies, la recherche en sélection variétale a récemment permis la découverte de nombreux gènes de résistance totale ou partielle, voire de leur caractérisation moléculaire. Ces gènes de résistance peuvent être déployés au sein du même cultivar (pyramidage) ou de cultivars différents, utilisables alors en alternance et/ou en mosaïque. De même que les fongicides exercent une pression de sélection sur les populations de pathogènes, les gènes de résistance peuvent être contournés et des stratégies optimisant leur utilisation deviennent indispensables. Dès lors, il devient important d'intégrer les différentes méthodes de lutte, permettant ainsi de maximiser l'hétérogénéité de la sélection subie par les populations fongiques, afin d'accroître globalement la durabilité des différentes méthodes de lutte (REX_Consortium *et al.* 2016).

STRATEGIES D'UTILISATION DE LA LUTTE CHIMIQUE

Les stratégies anti-résistance

La gestion de la résistance peut s'entreprendre de multiples manières. Il s'agit en pratique d'optimiser le déploiement dans l'espace et dans le temps des matières actives homologuées présentant des modes d'action différents, et ne présentant pas entre elle de résistance croisée positive (Fig. 2)(REX_Consortium 2013).

La première stratégie est la *séquence*. Elle consiste tout simplement à utiliser une matière active jusqu'à ce que l'évolution de la résistance la rende inefficace, justifiant alors l'utilisation d'une seconde matière active et ainsi de suite. Cette stratégie n'est en pratique pas très durable et ne sera pas abordée ici.

La seconde stratégie est l'*alternance*. Elle correspond à une rotation dans le temps des matières actives, la périodicité pouvant varier au sein d'une saison culturale, d'une année ou de plusieurs années.

La troisième stratégie, souvent dénommée *mosaïque*, correspond à l'utilisation de plusieurs matières actives au même moment, mais dans des endroits différents : un champ (ou un verger) est traité avec un fongicide, tandis qu'un autre, à la même période et dans la même région, est traité avec un second fongicide, l'ensemble aboutissant à une mosaïque spatiale, avec une maille géographique plus ou moins fine.

La stratégie de *mélange*, correspond à une utilisation des matières actives en même temps et au même endroit (pas de déploiement spatial ou temporel).

La *modulation de la dose* est une pratique largement répandue, permettant de limiter les quantités de pesticides apportées sur un territoire, mais pouvant avoir des conséquences sur la gestion de la résistance. En pratique, les doses des partenaires associés dans un mélange sont en général réduites (pour raisons toxicologiques, économiques, et parce que les partenaires peuvent avoir des activités synergiques), par rapport aux doses utilisés lorsque le fongicide est apporté seul.

Enfin, la *limitation* d'usage revêt souvent un caractère réglementaire, imposé dès l'homologation. Elle autorise un nombre maximal d'applications du fongicide, et permet de manière pragmatique de limiter la sélection exercée par un fongicide, tout en limitant ses effets non intentionnels sur la santé humaine et l'environnement.

L'objectif d'une recommandation durable de fongicides est de définir la tactique (stratégie, combinaison de stratégies et/ou de méthodes de lutte) la mieux adaptée à un pathogène donné.

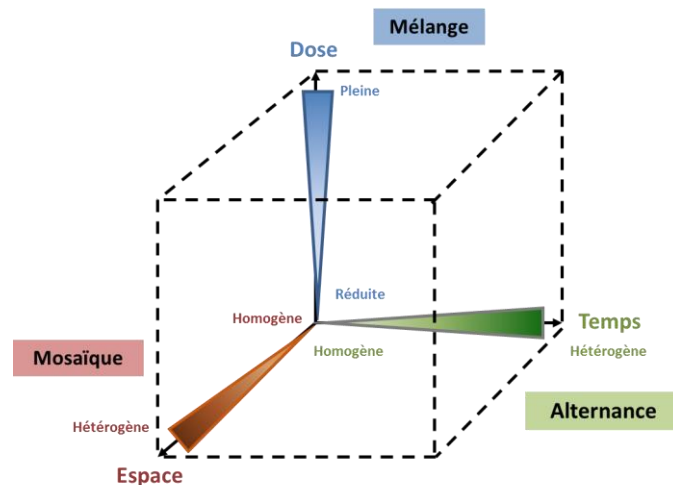


Figure 2. Les principales stratégies anti-résistance ou le déploiement dans l'espace et dans le temps des différents fongicides.

The main anti-resistance strategies or the spatial and temporal deployment of the various fungicides.

Stratégie de mélange

Le principe de la stratégie de mélange est de tuer le même génotype de deux manières différentes, en utilisant deux modes d'action ne présentant pas de résistance croisée positive (Hobbelen *et al.* 2011; van den Bosch *et al.* 2014). Ainsi, un mutant résistant à un fongicide sera contrôlé par le second fongicide. Les deux modes d'action sont déployés sur la même génération (sélection intra-générationnelle). Cette stratégie repose sur la faible probabilité d'acquisition de résistance à plusieurs modes d'action (résistance multiple). D'une manière générale, en cas de mélange de deux matières actives à risque moyen ou fort, les meilleurs résultats (absence ou faible fréquence de doubles résistants)

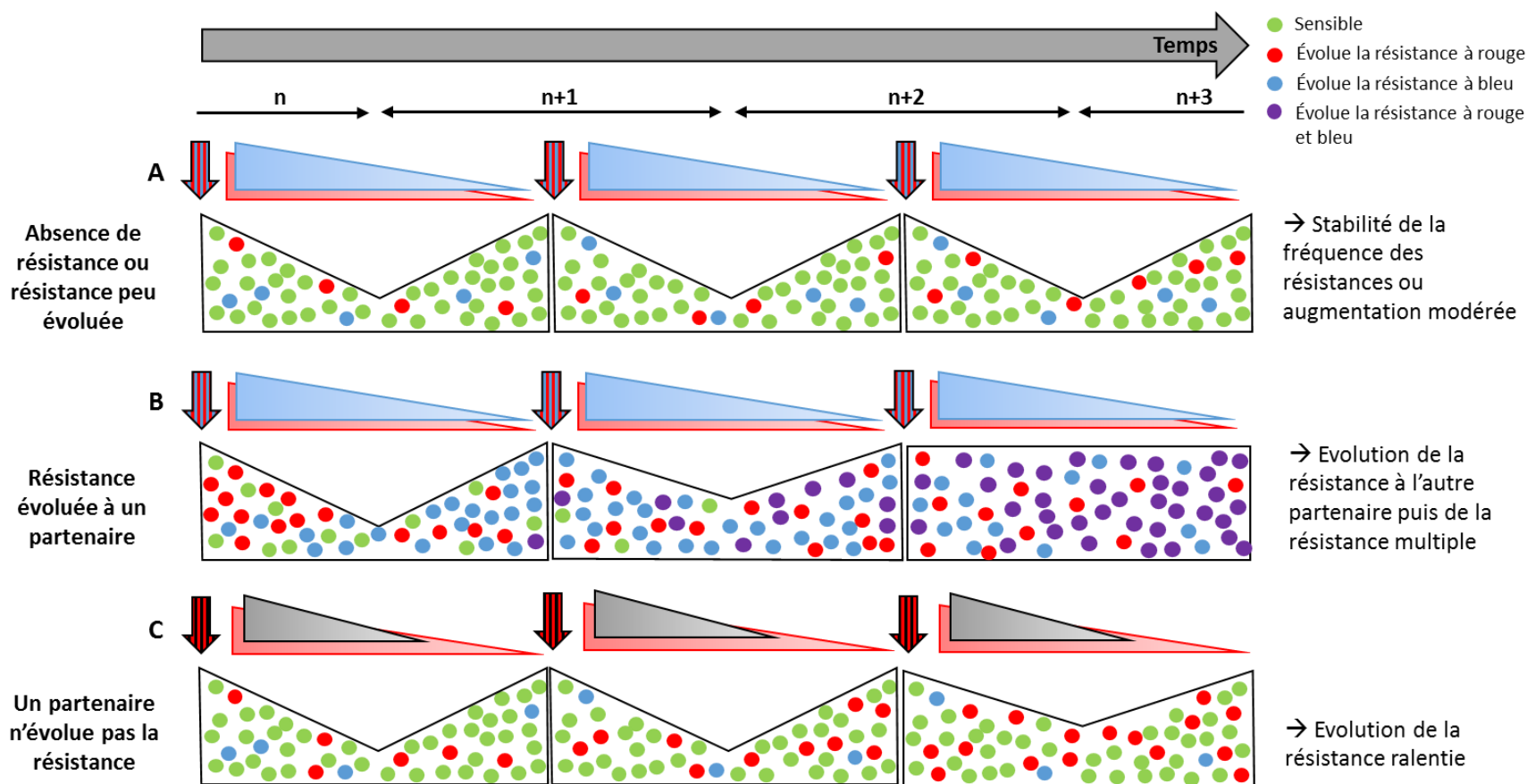


Figure 3. Stratégie de mélange : mécanisme, particularités et limites.

Mixture strategy: mechanism, features and limits.

Les flèches verticales représentent les applications en mélange de deux fongicides (rouge ou bleu) présentant des modes d'action différents. Les triangles présentent les périodes d'exposition de la population fongique à ces fongicides. Au moment du traitement, une génération n est constituée d'un certain nombre d'individus (axe vertical des polyèdres) qui décroît au fur et à mesure de l'efficacité des fongicides. A la génération suivante $n+1$, la taille de la population augmente à nouveau jusqu'à l'application suivante. Les points représentent les individus constituant les populations. Leurs couleurs représentent leur statut par rapport à la résistance. Les fréquences relatives des différentes couleurs représentent la fluctuation théorique de la structure des populations au cours du temps. L'évolution des résistances est ici représentée de manière accélérée, pour des raisons pédagogiques.

s'observent si elles sont introduites simultanément (Fig. 3A). Ce type d'association est par contre inadapté lorsque la résistance en pratique à l'un des partenaires est déjà diagnostiquée car des souches présentant la double résistance peuvent être sélectionnées plus rapidement (Fig. 3B). Une telle situation a été récemment observée suite à l'introduction d'associations comportant un SDHI et un QoI-P.

Il est également primordial, pour limiter le risque de résistance, que les doses de chacune des matières actives garantissent non seulement leur efficacité cumulée mais également leurs efficacités individuelles. Parmi les mélanges de fongicides à risque moyen ou fort, certains se singularisent par l'existence d'une résistance croisée négative entre leurs deux composants (ex : carbendazime + diéthofencarbe) mais leur utilisation peut également conduire à la sélection de mutants doublement résistants. Enfin, les associations d'un unisite (à risque moyen ou fort) et d'un multisite (à risque faible) sont susceptibles, à condition d'être appliqués préventivement et d'utiliser un multisite dont la rémanence n'est pas trop réduite, de limiter l'émergence et la sélection des souches résistantes au fongicide unisite (Fig. 3C). Elles doivent par ailleurs assurer une efficacité satisfaisante en cas de résistance généralisée envers l'unisite, ce qui pose la question de leur maintien si l'efficacité résiduelle de l'unisite est insuffisante. De telles associations sont couramment utilisées contre divers agents phytopathogènes dont les mildious de la pomme de terre et de la vigne. Il est à noter enfin que certains mélanges, par exemple à base de molécules partageant le même mode d'action, ne constituent pas une stratégie pour prévenir la résistance mais peuvent être utiles pour accroître l'efficacité ou le spectre d'activité (à un complexe de maladies par exemple) de l'application.

Stratégie d'alternance

Le principe de l'alternance est de tuer différemment (*i.e.* avec des modes d'action différents, ne présentant pas de résistance croisée positive) une génération et sa descendance (sélection inter-générationnelle). Les modes d'action se succèdent dans le temps, sur le même territoire (Fig. 4A et 4B). Si une première matière active ne tue pas un individu, alors sa descendance, portant le même allèle de résistance, sera tuée par un autre mode d'action (Hobbelen *et al.* 2013). L'alternance est à envisager dans le cadre de programmes de traitements car elle favorise l'expression du coût de la résistance entre les générations du pathogène, s'il existe, contribuant à diminuer la fréquence de la résistance. L'alternance est d'autant plus efficace qu'il y a concomitance entre changement de mode d'action et changement de génération. Cette pratique est courante sur les cultures pérennes (ex. oïdium et pourriture grise de la vigne, tavelure du pommier, maladie des tâches noires du bananier). L'alternance pluriannuelle n'est possible que lorsque le nombre de classes de fongicides est important et celui des traitements limité (*e.g.* pourriture grise de la vigne). Lorsque plusieurs applications d'une même classe de fongicides sont autorisées, un usage séquentiel est parfois préférable, pour les molécules unisites à forte rémanence, *i.e.* dont l'activité peut se poursuivre sur la génération $n+1$. Enfin, dans le cas d'une résistance croisée partielle au sein d'une classe fongicides (ex : IDM, SDHI), une alternance entre matières actives est parfois pratiquée, permettant de valoriser les activités spécifiques de chaque molécule sur les divers génotypes résistants, en respectant toutefois la limitation du nombre de traitements applicables à l'ensemble de la classe. L'alternance avec un fongicide multisites permet de contrôler tous les génotypes, lorsqu'une résistance à un unisite est déjà développée, mais son efficacité peut être limitée par sa faible rémanence (Fig. 4C).

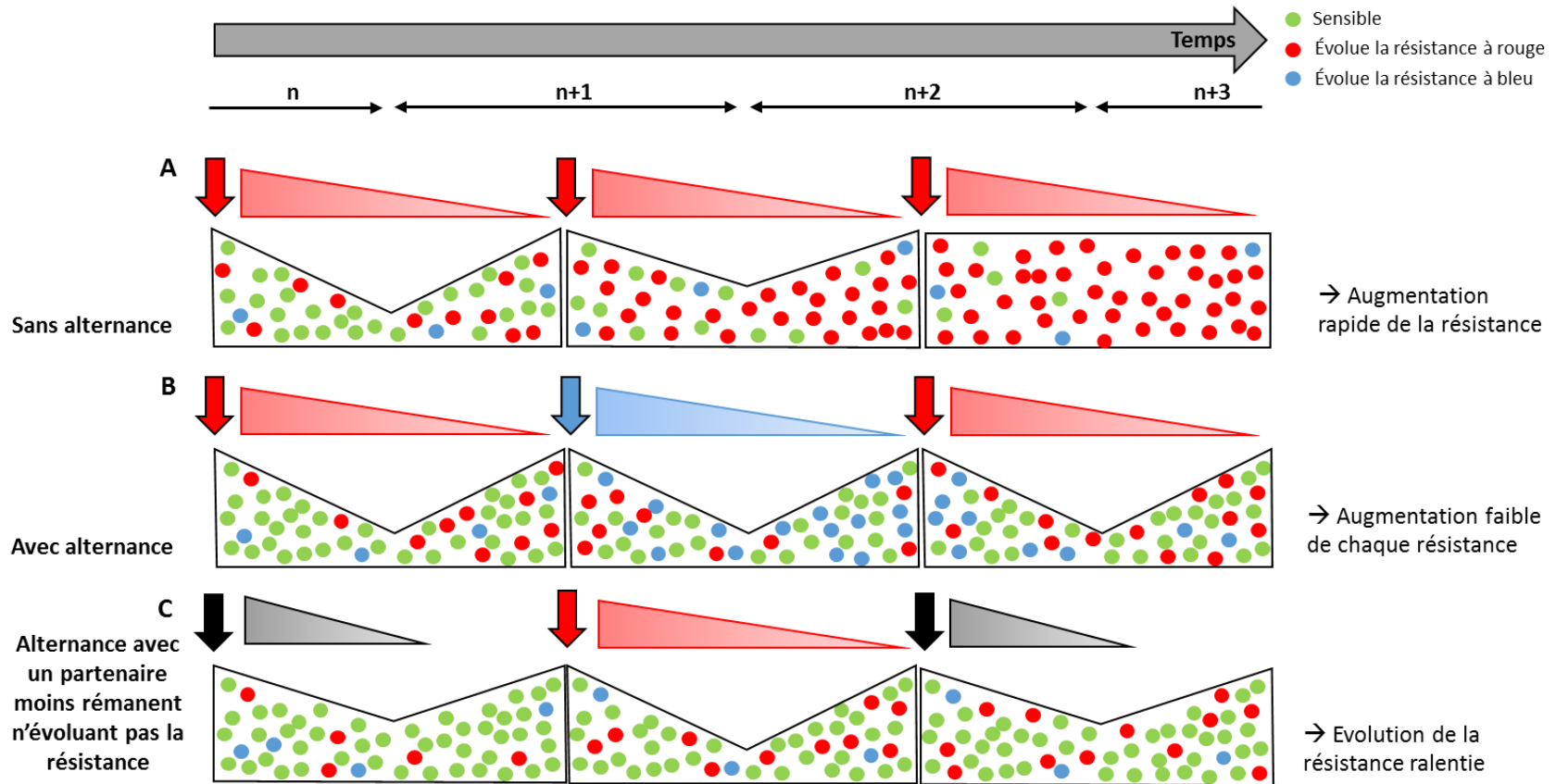


Figure 4. Stratégie d'alternance : mécanisme, particularités et limites.

Alternation strategy: mechanism, features and limits.

Les flèches verticales représentent les applications alternées de deux fongicides (rouge ou bleu) présentant des modes d'action différents. Les triangles présentent les périodes d'exposition de la population fongique à ces fongicides. La rémanence des fongicides multisites (en noir) est en général plus courte que celle des unisites. Au moment du traitement, une génération n est constituée d'un certain nombre d'individus (axe vertical des polyèdres) qui décroît au fur et à mesure de l'efficacité des fongicides. A la génération suivante n+1, la taille de la population augmente à nouveau jusqu'à l'application suivante. Les points représentent les individus constituant les populations. Leurs couleurs représentent leur statut par rapport à la résistance. Les fréquences relatives des différentes couleurs représentent la fluctuation théorique de la structure des populations au cours du temps. L'évolution des résistances est ici représentée de manière accélérée, pour des raisons pédagogiques.

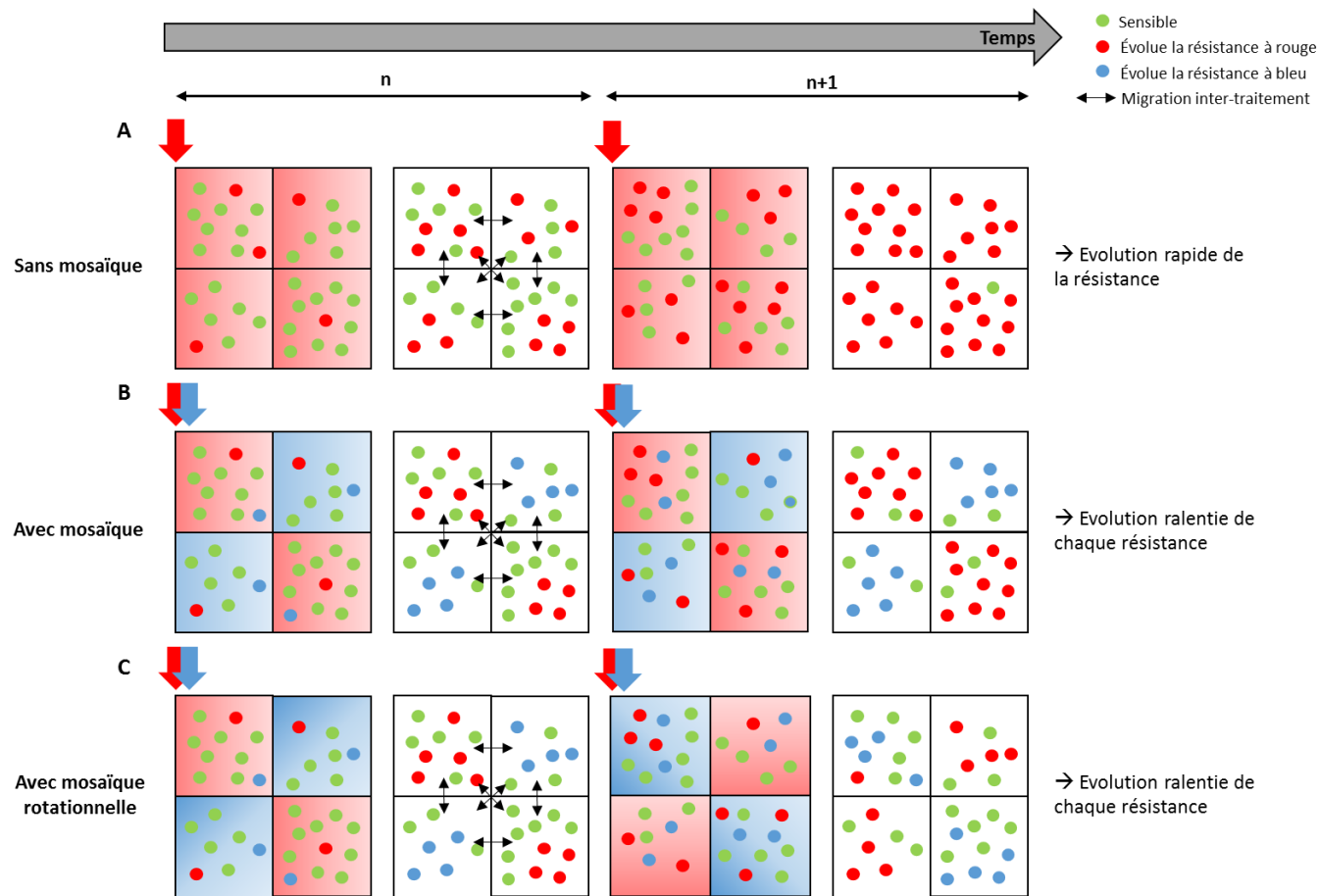


Figure 5. Stratégie de mosaïque : mécanisme, particularités et limites.

Mosaic strategy: mechanism, features and limits.

Les flèches verticales représentent les applications en mosaïque de deux fongicides (rouge ou bleu) présentant des modes d'action différents, sur des parcelles différentes d'un territoire théorique. L'efficacité des traitements sur une parcelle se réduit au cours du temps, selon la rémanence des substances actives : l'exposition est en général nulle ou faible avant le traitement suivant, ce qui permet à la population de se multiplier et aux différents génotypes de migrer entre les parcelles (flèches), ce qui modifie la structure des populations en début de génération suivante. Les points représentent les individus constituant les populations. Leurs couleurs représentent leur statut par rapport à la résistance. Les fréquences relatives des différentes couleurs représentent la fluctuation théorique de la structure des populations au cours du temps et dans l'espace. L'évolution des résistances est ici représentée de manière accélérée, pour des raisons pédagogiques.

Stratégie de mosaïque

La stratégie de mosaïque est peu mise en œuvre pour la gestion des résistances aux fongicides. Le principe de cette stratégie consiste à éliminer différemment (*i.e.* avec des modes d'action différents, ne présentant pas de résistance croisée) une génération résistante et sa descendance, ayant migré sur un autre territoire traité différemment (sélection intergénérationnelle). En pratique, elle consiste à utiliser plusieurs matières actives au même moment mais dans des parcelles différentes, permettant ainsi d'exercer des pressions de sélection variées entre les générations migrantes (Fig. 5A et 5B). Comme dans le cas de l'alternance, cette stratégie permet de valoriser les coûts éventuels associés à la résistance, en permettant une moindre survie des individus résistants entre les générations. Cette stratégie, qui permet de gérer la résistance des insectes aux insecticides, notamment pour prévenir la résistance au Bt des cultures OGM, pourrait être utilisée chez les champignons phytopathogènes à capacité migratoire, mais reste à optimiser, notamment pour la maille de la mosaïque, qui doit être adaptée aux capacités et périodes de migration de l'espèce ciblée. En particulier, la mosaïque rotationnelle (Fig. 5C), permettant d'alterner les matières actives à la fois dans l'espace et dans le temps, ce qui augmente l'hétérogénéité de la sélection.

Stratégie de limitation de la dose

La modulation de la dose représente la possibilité de faire varier l'intensité de la pression de sélection à un fongicide et donc d'exercer des pressions de sélection contrastées (van den Bosch *et al.* 2011). La majorité des cas de résistance aux fongicides sont causés par des mutations altérant le gène codant pour leur cible biochimique (résistance liée à la cible, générant en général des dynamiques qualitatives de l'évolution des résistances). A une dose forte, seuls les individus les plus résistants survivent et se multiplient entre eux de manière plus probable, ce qui induit des pertes d'efficacité souvent brutales (*e.g.* résistance aux Qol chez divers pathogènes). Pour ce type de résistance, une diminution de la dose peut être favorable, car elle permet la survie d'une fraction de la population sensible, ralentissant la progression de la résistance mais diminue également le contrôle de la population (Fig. 6A et 6B). Dans certains cas (notamment, résistance des pathogènes aux IDM), la résistance présente une dynamique quantitative, *i.e.* différents génotypes de niveaux de résistance généralement croissants se succèdent dans les populations, du fait notamment de la combinaison de plusieurs allèles et/ou mécanismes de résistance. Cette dynamique est en théorie permise par les doses réduites, qui favorisent le passage par les états intermédiaires en permettant la survie d'individus peu résistants, pouvant se reproduire entre eux et combiner leurs allèles de résistance (Fig. 6C et 6D).

CONCLUSION

L'efficacité relative des différentes stratégies anti-résistance fait l'objet d'un débat scientifique continu et toujours d'actualité, exploré *via* des approches empiriques ou de modélisation. La difficulté à conclure résulte du fait que certaines études se contredisent, probablement parce que les traits biologiques associés aux modèles fongiques influencent fortement la durabilité des stratégies. Celles-ci doivent donc être raisonnées au cas par cas. Il convient également de dissocier la gestion de l'efficacité, et la gestion des résistances, impliquant des échelles de temps différentes et souvent basées sur des pratiques contradictoires.

LITTERATURE

- Hobbelen PHF, Paveley ND, Oliver RP, van den Bosch F (2013) The usefulness of fungicide mixtures and alternation for delaying the selection for resistance in populations of *Mycosphaerella graminicola* on winter wheat: A modeling analysis. *Phytopathology* **103**, 690-707.
- Hobbelen PHF, Paveley ND, van den Bosch F (2011) Delaying selection for fungicide insensitivity by mixing fungicides at a low and high risk of resistance development: a modeling analysis. *Phytopathology* **101**, 1224-1233.

- R4P (2016) Trends and Challenges in Pesticide Resistance Detection. *Trends in Plant Science* **21**, 834-853.
- REX_Consortium (2013) Gestion des résistances. L'importance des modalités de déploiement des substances. *Phytoma-La Défense des Végétaux* **669**, 10-14.
- REX_Consortium, (Bourguet D, Delmotte F, *et al.* (2016) Combining selective pressures to enhance the durability of disease resistance genes. *Frontiers in Plant Science* **7**.
- van den Bosch F, Paveley N, Shaw M, Hobbelen P, Oliver R (2011) The dose rate debate: does the risk of fungicide resistance increase or decrease with dose? *Plant Pathology* **60**, 597-606.
- van den Bosch F, Paveley N, van den Berg F, Hobbelen P, Oliver R (2014) Mixtures as a Fungicide Resistance Management Tactic. *Phytopathology* **104**, 1264-1273.

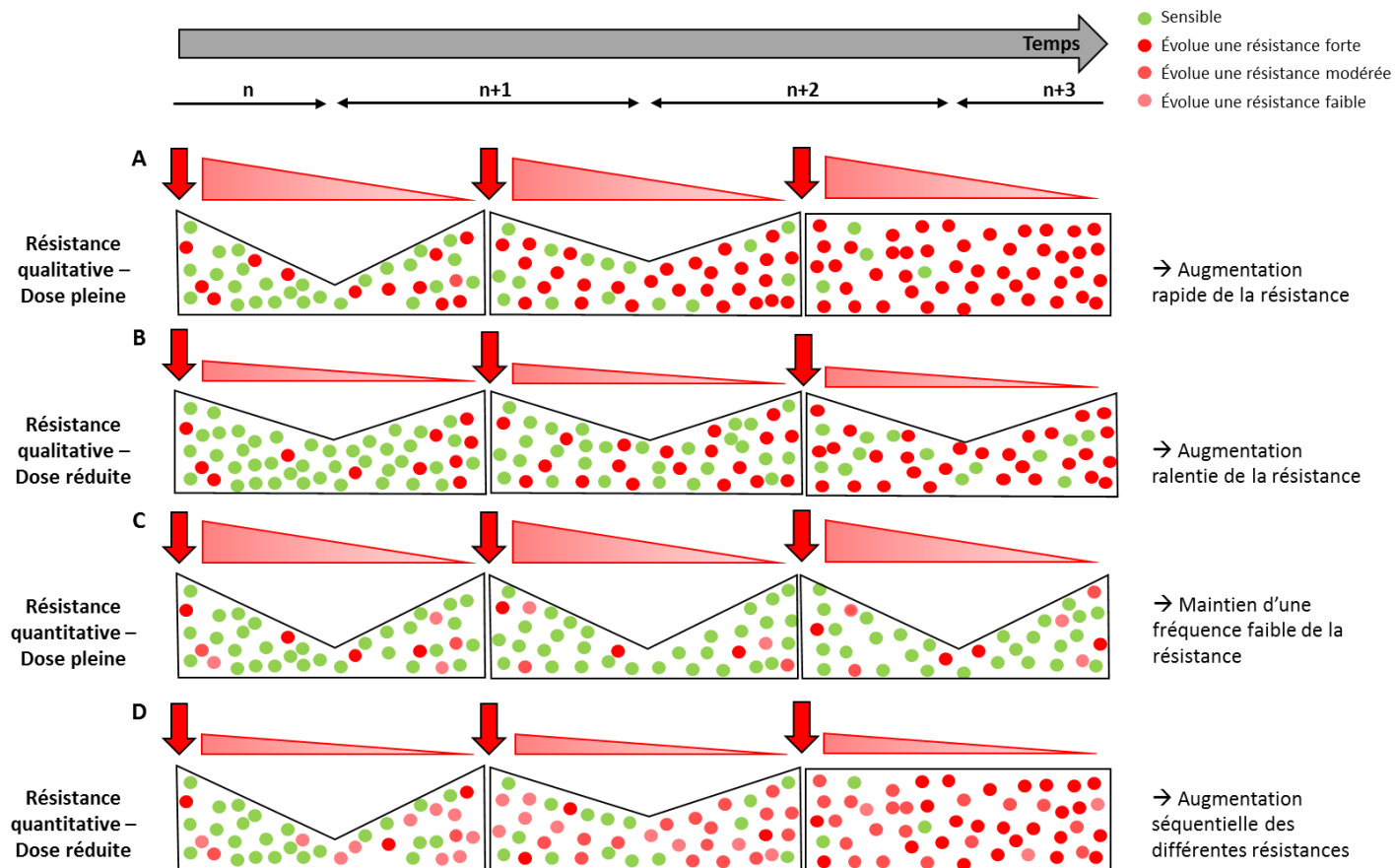


Figure 6. Stratégie de modulation de la dose : mécanisme, particularités et limites.

Dose modulation strategy: mechanism, features and limits.

Les flèches verticales représentent les applications du fongicide, à des doses pleines ou réduites. Les triangles présentent les périodes d'exposition de la population fongique à ces fongicides. Les doses réduites exposent la population fongique à une sélection réduite. Au moment du traitement, une génération n est constituée d'un certain nombre d'individus (axe vertical des polyèdres) qui décroît au fur et à mesure de l'efficacité des fongicides. A la génération suivante $n+1$, la taille de la population augmente à nouveau jusqu'à l'application suivante. Les points représentent les individus constituant les populations. Leurs couleurs représentent leur statut par rapport à la résistance ; le dégradé de rouge représente en particulier des génotypes présentant des niveaux de résistance faible à fort vis-à-vis du fongicide de sélection. Les fréquences relatives des différentes couleurs représentent la fluctuation théorique de la structure des populations au cours du temps. L'évolution des résistances est ici représentée de manière accélérée, pour des raisons pédagogiques.